Aus dem haematologischen Laboratorium der Abteilung für
Medizinisch-Biologische Forschung der SANDOZ AG., Basel,
Leiter: Ehrendozent Dr. med. E. Undritz.

Mit Unterstützung der "Roche" - Studienstiftung

MORPHOLOGIE DES EVERTEBRATENBLUTES

mit spezieller Berücksichtigung der Ascidien

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

1962

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

vorgelegt von

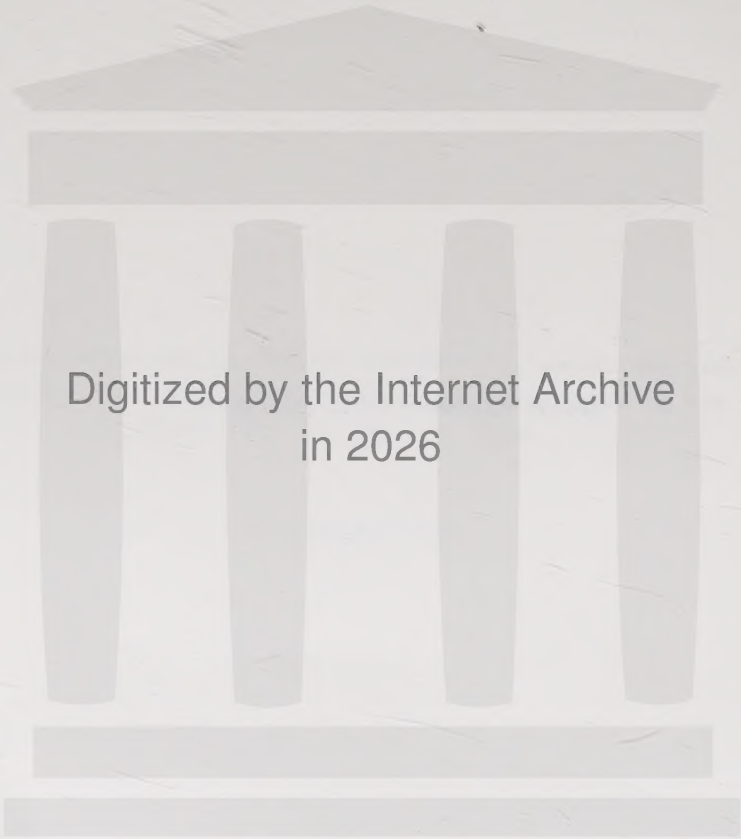
Aida Steinemann - Hussein
von Hagenbuch, Kanton Zürich

Basel 1963

Arbeit unter Leitung von Ehrendozent Dr. med.E. Undritz;
von der Medizinischen Fakultät genehmigt auf Antrag von
Herrn Prof. Dr. med. O. Gsell.

26. November 1962

Meiner lieben Mutter gewidmet


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546005_0049

Inhaltsverzeichnis.

		Seite
1.	Einleitung und Historisches	1
2.	Problematik	8
3.	Untersuchungsmaterial	11
4.	Methodik der Untersuchungen	15
5.	Beschreibung und Vergleiche der Blutzellen	18
6.	Die Vanadozyten (Pseudoeosinophile, Neutrophile)	19
7.	Die Basophilen	21
8.	" Flavozyten (Eosinophilen)	22
9.	" Monozyten	24
10.	" Plasmazellen	26
11.	" Endothelien (?) (Thrombozyten?)	29
12.	Schlussbetrachtung	31
13.	Zusammenfassung	33
14.	Tabellen	27,28,30,32
15.	Abbildungen	
16.	Literaturverzeichnis	

Einleitung und Historisches.

Die Kenntnis der Morphologie des Blutes der Tiere, der Evertebra- und Vertebraten ist auch für den Hämatologen von grossem Interesse. Die morphologischen Untersuchungen des Tierblutes haben manche Fragen der Haematologie beim Menschen abklären können und dem Verständnis nähergebracht.

Die ersten, sehr lückenhaften Arbeiten über die Morphologie des Blutes bei den Wirbellosen erschienen um die Mitte des letzten Jahrhunderts. Seither sind sehr viele Publikationen über dieses Gebiet veröffentlicht worden. Die eigentliche, grundlegende Erforschung, man kann sie heute als klassisch bezeichnen, konnte aber erst beginnen, nachdem die weissen Blutzellen färberisch dargestellt werden konnten. Bis zu diesem Zeitpunkte wurden u.a. Arthropoden,, Mollusken, Ringelwürmer und Echinodermen von Leydig, 1857, (23), untersucht; bei den Ringelwürmern unterschied er das Blut von der Lymphe, beschrieb das Blut einiger Wirbelloser als farblose Flüssigkeit, die höchstens einen"leichten Stich in's Blaue, Gelbe, Grüne oder Violette" habe. Die Zellen seien "von variabler Grösse und Gestalt, ... sie haben immer einen Kern" und "der Inhalt ist bald klar, bald mehr oder weniger körnig."

Die meisten Autoren beschränkten sich mit der Erforschung des einen oder anderen Stammes oder einer bestimmten Gattung der Wirbellosen, ohne Vergleiche mit den übrigen. Rouget, 1859,(25), entdeckte rotgefärbte Korpuskel im Blute und machte sie für die rote Farbe des Blutes einiger Arten verantwortlich. 1874 unterschied Lacaze -Duthier (22) bei der Ascidie Anurella Roscovita opake und transparente Kugeln; 1882 stellte Della Valla (6) bei einer der Ascidien die Vermehrung der Blutzellen durch Teilung fest; Roule, 1884, (26), unterschied farbige und farblose Zellen bei Ciona intestinalis, 1885 liess Wagner,N. (42) farblose Osmiumsäure auf das Blut einwirken und beobachtete die Schwarzfärbung einiger Zellen.

Die erste umfassende, vergleichende Untersuchung des Evertebratenblutes erfolgte durch Cuénot,L.,1891, (5), später befassten

sich auch Knoll,Ph, 1893, (19), Seeliger, 1883 - 1907 (27) und Kollmann, 1908 (20), damit. Ohuye, 1936 (24), Azéma, 1937 (7) und George, 1926 - 1939 (9) untersuchten speziell das Blut der Tunicaten. Es zeichnet sich durch eine besondere Mannigfaltigkeit von Zellen aus, was alle Autoren bestätigen, und zwar innerhalb der Gattungen wie auch der Spezies, weswegen eine befriedigende Klassifizierung bisher nicht gefunden wurde. Eine Klassifizierung des Tierblutes war ohnedies erst möglich, nachdem die immer aktueller werdende Untersuchung des Menschenblutes durch viele Millionen Einzeluntersuchungen und unter Beteiligung einer grossen Anzahl von Medizinern ein klares Bild über die Verhältnisse bei dieser hochentwickelten Spezies ergab. Bisher haben sich ausschliesslich einige Zoologen und Physiologen mit dem Tunicatenblut beschäftigt; dadurch erklärt sich, dass jeder Autor seine eigenen Bezeichnungen schuf, was eine allgemeine Terminologie ausschloss. Vergleicht man die verschiedenen Interpretationen miteinander, so ist oft nicht klar, was gemeint ist.

Bei der Erforschung des menschlichen Blutes sind in den letzten Jahrzehnten, dank neuer Färbe- u. anderer Untersuchungsmethoden, rapide Fortschritte erzielt worden; Tiere wurden bei diesen neuen Untersuchungsmethoden weniger einbezogen. Wohl ist das Blut der Vertebraten, insbesondere das der Säuger, und darunter aus naheliegenden Gründen dasjenige der Haus- und Labortiere besser bekannt- aber es bestehen immer noch grosse Lücken in der Kenntnis des Blutes der Evertebraten, speziell wurden bisher keine befriedigenden Vergleiche mit dem Blute der Wirbeltiere gezogen. Noch 1938 bestätigt Jordan (17) die grosse Lücke des Zusammenhanges zwischen dem Blute der Wirbellosen und der Wirbeltiere; er stellt allerdings fest, dass einige besondere oder aberrierende Formen von Anneliden (Gephyreen und Glyceriden) und Holothurien eine schmale Brücke bilden. Undritz hat es sich seit einigen Jahren zur Aufgabe gemacht, das Blut nicht nur der Vertebraten, sondern auch der Evertebraten mit klassischen und modernen Methoden zu erforschen, kam auf Grund der vielen Untersuchungen und Resultate zur Erkenntnis eines weitgehenden Polyphyletismus der einzelnen Blutzellarten und folgerte, dass es stets dieselben verschiedenen Blutkörperchen-

(28)

arten sind, welche sich im ganzen Tierreich finden, wobei die primitiven Vertebraten nur eine Zellart, die Normozyten, weniger aufweisen als die Säugetiere und der Mensch. Die Sekundärunterschiede in Grösse, Form, tinktoriellem Verhalten etc. können allerdings beträchtlich sein, berühren aber weiter nicht die Homologie. (29). Undritz hat einen Teil der Resultate seiner umfangreichen Forschungen bisher in kurzen Uebersichts- oder Spezialarbeiten publiziert.

Als Ergänzung zu diesen Forschungen untersuchten wir erneut das Blut der Ascidien. Die eigentliche Anregung zur Arbeit verdanke ich Herrn Prof. W. Knoll, der noch kurz vor seinem Tode in seiner nie erlahmenden Aktivität mich dazu aufforderte. Das Material erhielt ich zu einem Teil während eines mehrwöchigen Aufenthaltes, den mir die Fa. Hoffmann- la - Roche finanziell ermöglichte, in der Statione zoologica di Napoli, wo mir Herr Prof. Portmann den schweiz. Arbeitsplatz überliess und mir Herr Direktor Dr. P. Dohrn ein Laboratorium freundlicherweise zur Verfügung stellte. Bei der Auswertung dieser Arbeit, die viel Geduld und Zeit erforderte, half mir wiederum Fa. Hoffmann-la - Roche, geleitet durch eine schöne und fruchtbare Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Undritz, oft unterstützt durch seine Ermunterungen. Herr Dr. Undritz stellte mir auch freundlicherweise seine Präparatsammlung zur Verfügung, die er 1957 auf Anregung von Herrn Prof. H.J. Bielig und Dr. Allmann, Heidelberg, von Tieren, die ihm von diesen Herren zur Verfügung gestellt wurden, hergestellt hatte und die vorläufigen Resultate seiner Untersuchungen.

Allen bin ich zu tiefem und aufrichtigem Danke verpflichtet.

Problematik.

Meine Aufgabe bestand darin, die Befunde früherer Arbeiten zu prüfen und deren Klassifizierung von Blutkörperchen der Tunicaten mit der unsrigen zu vergleichen. Trotz der vielen Interpretationen waren sich die Forscher immerhin einig, dass die Blutkörperchen dieser Tiere vorwiegend Leukozyten seien und dass alle Leukozyten vom Lymphozyten stammen würden. Noch in der letzten erschienenen Arbeit aus dem Jahre 1960 von Endean, R. (7) wird vom Lymphozyten als den Stammzellen aller Blutkörperchen gesprochen.

Cuénot beschrieb noch eine weitere Zellart: grosse, farblose Bläschen von 10 bis zu 45 µ Durchmesser, mit unregelmässiger Kontur und faltiger Zellwand; der Kern hafte seitlich an der Membran und soll sich mit Osmiumsäure schwärzen. In dem Bläschen befinden sich einige gelbe Granula. Die kleinsten, für Cuénot gleichzeitig die jüngsten, seien ausgesprochen rund, mit zunehmendem Alter falte sich die Zellwand ein wenig, ihre Elastizität bewahrend. Er warf die Frage auf, ob es sich hier nicht um ein rotes Blutkörperchen (hématie) handeln würde, was spätere Autoren (Kollmann u.a.) jedoch bestritten.

Bei den Leukozyten ("amibocytes") unterschied Cuénot (5) folgende Arten: amibocytes typiques normaux, à graisses, de reserve à vacuole, orangées. Kollmann (20) leitete alle Zellarten von seinen sog. hyalinen Leukocyten 1.Stadiums ab, von denen folgende Typen entstammen sollten: die hyalinen Leukozyten 2. Stadiums. granulierten Leukozyten, Fettzellen, vacuolisierten Zellen (cellules vacuoles), Kügelchenzellen (c. sphéruleuses), Fettkügelchenzellen (c. adipo-sphéruleuses) und Pigmentzellen. Auch Degenerationsformen mit pyknotischem Kern wurden von ihm beschrieben.

Die Hypothese, der Lymphozyt sei bei den Evertebraten und Vertebraten die Stammzelle aller Leukozyten ist durch die polyphyletische Lehre nicht mehr aufrecht zu halten; nach heute bekannten Befunden ist der Lymphozyt eine Zellart für sich und zwar stammesgeschichtlich die jüngste Zelle, die erst bei den Wirbel-

tieren auftritt und bei den Evertebraten fehlt. Die Tunicaten, und zu ihnen gehören die Ascidien, nehmen insofern eine Sonderstellung ein, als sie wohl zu den Evertebraten gehören, aber schon ein Chorda besitzen, allerdings nur im Larvenstadium. Es stellt sich die Frage, ob sich die Annahme bestätigen lässt, dass sie ein Zwischenstadium der Evertebraten zu den Vertebraten sind. Eine weitere Eigenart, welche die Ascidien nicht mit den übrigen Evertebraten teilen und die sehr früh erkannt wurde, ist das Vorkommen von sog. Maulbeerzellen und " Pigmentzellen ". Die Maulbeerzellen reagieren mit Osmiumsäure schwarz, enthalten als Chromogen eine Vanadiumverbindung, deren physiologische Bedeutung heute noch unbekannt ist. Wir werden später noch darauf zurückkommen. Auch die Natur der sog. " Pigmentzellen " der Tunicaten, die jeglicher Farblösung gegenüber resistent sind, ist noch ungeklärt.

Den Untersuchungen und Publikationen von Undritz (29,32) folgend sind bei den Evertebraten die Blutkörperchenarten in nicht so breiten Spektren vertreten, wie bei den Vertebraten; es sind weniger Arten vorhanden. Bei bestimmten Evertebraten kommen nur Plasmazellen und Monozyten vor; bei den meisten anderen bisher untersuchten Wirbellosen gesellt sich noch eine andere Zellart hinzu. Es können dies "Neutrophile", "Azidophile" [bei diesen handelt es sich wahrscheinlich auch um eigentliche Neutrophile, die aber eine ausgesprochene azidophile Granulation aufweisen, wie sie bei vielen Vertebraten (Kaninchen, Elephant etc.) vorkommen und auch als "Pseudoeosinophile" bezeichnet werden. Wieweit sie bei einigen Tierarten echte Eosinophile sein könnten, ist noch nicht entschieden, da jeweils nur eine solche azidophil granulierte Zellart bei Evertebraten vorkommt. Die Unterscheidung zwischen Pseudoeosinophilen und Eosinophilen ist leicht, wenn beide gleichzeitig vorhanden sind, wie bei vielen Vertebraten. Sie kann aber noch unmöglich sein, wenn nur eine Zellart vorliegt, insbesondere weil die Farbaffinitäten und histochemischen Reaktionen für dieselbe Zellart bei den verschiedenen Tierarten entgegengesetzt ausfallen kann.], Blut- oder Gewebsbasophile, aber auch Erythrozyten (Megalozyten) sein. Nach Undritz kommen im Evertebratenblut Normozyten, Thrombozyten

(29,32)

Megakaryozyten-Plättchen und Lymphozyten überhaupt nicht vor.

Bei unserer Untersuchung des Ascidienblutes verfolgten wir folgende Ziele:

1. Die Morphologie und das färberische Verhalten der einzelnen Zellen bei verschiedenen allgemeinen und spezifischen Färbemethoden und histochemischen Reaktionen.

2. Versuch einer Differenzierung und Typisierung der Zellen im Vergleich zu den bekannten Blutzellen der Evertebraten, Vertebraten und des Menschen; Verwendung der gleichen Bezeichnungen.

Es kam uns besonders darauf an, nicht nur die einzelnen Zellarten voneinander zu unterscheiden, sondern auch die verschiedenen Entwicklungsstufen einer jeden Zellart, von den jüngsten Elementen bis zu den reifsten zu erkennen und keine Elemente zu verwechseln.

Das Untersuchungsmaterial:

Zur Einführung möchten wir einige allgemeine Bemerkungen über unsere Untersuchungstiere vorausschicken; eine ausführliche Beschreibung ist im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich und wir verweisen auf die diesbezüglichen Handbücher der Zoologie und der Naturwissenschaften.

Die Ascidiaceae (Seescheiden) gehören zur 2. Unterklasse der Tunicaten; diese Unterklasse verzweigt sich in 2 Ordnungen, deren 1. Ordnung, zu denen die Enterogona gezählt werden, uns näher beschäftigte. Die Enterogona werden weiter unterteilt. Die Gattung Ciona, mit dem Typus Ascidia intestinalis wird in die erste Familie, die Gattung Phallusia, mit dem Typus Ascidia mamillata und die Gattung Ascidia, mit dem Typus Ascidia mentula zur vierten Familie der Phlebobranchiata eingegliedert, die ihrerseits als 2. Unterordnung der Enterogona klassifiziert wird. (Kükenthal,21)

Beschrieben wurden die Ascidiaceae zum ersten Male von Aristoteles unter dem Namen Tethya. Sie leben im seichten Meereswasser, abhängig vom Salzgehalt, zu 85% in einer Tiefe zwischen 0 und 400 m, die Hälfte von ihnen in den oberen 50 m. Man kennt ca. 2000 Arten, von denen etwa nur 100 pelagisch sind. Die meisten Arten sind sessil und haften mit ihrem hinteren Körperende an der Unterlage; der Verlust des Schwanzes soll bei den Ascidien mit der festsitzenden Weise zusammenhängen. Zur Befestigung besitzen sie wurzelähnlich verzweigte Haftfortsätze. Die Tiere können riesige Kolonien bilden; mit wenigen Ausnahmen sind sie Hermaphroditen. Die Vermehrung geschieht durch Knospenbildung und durch einen ausgeprägten Generationenwechsel. Charakteristisch für sie ist die Tonnen- oder Zylinderform und der dicke, echte Cellulosemantel, die Testa, deren Dicke sehr variiert (8mm bis 4 cm); die Oberfläche der Testa weist regelmässige Bildungen auf, die für eine Art oder Gattung spezifisch sind. Einige Ascidienarten weisen lebhafte Farben auf; die Farbvariationen sind sehr individuell; die Individuen einer Art können ganz verschiedene Farben besitzen. Die drei Arten, die wir

untersuchten, sind milchig- grauweiss.
Die Gefässe stellen ein System von Lückenräumen in der primären Leibeshöhle dar, die teilweise mit Endothel ausgekleidet sind. Das Herz, entodermalen Ursprunges, befindet sich hinter dem Kiemendarm und ist beutelförmig. Es unterscheidet sich von Herzen anderer Evertebraten insofern, als es periodisch die Richtung wechselt, in der es das Blut ausstösst. Das Plasma ist eine farblose Flüssigkeit, von neutraler bis schwach alkalicher Reaktion, isoton, evtl. leicht hyperton zum Meereswasser und einem p_H von 7,0 - 7,4 (Meerwasser, in dem die Tiere leben, hat ein p_H von 8,1), osmotischer Druck und Gefrierpunkt (Henze, 1911/13, 14) sind ähnlich dem Meereswasser, totaler Salzgehalt etwas geringer, Chlorgehalt des Plasmas etwas höher und Schwefelsäuregehalt ungefähr halb so hoch, ca. 61 %, wie Meerwasser. Es ist reich an korpusculären Bestandteilen [nach Webb (43) 64'000 Blutkörperchen pro mm^3, nach Endean (7) 68'000], und färbt sich rasch dunkelblau bei Exposition an frischer Luft.

1847 erfolgten die ersten physiologisch - chemischen Untersuchungen durch Harless (12); er beschäftigte sich bereits mit der Frage, ob den von ihm beobachteten Farbänderungen des Blutes eine respiratorische Bedeutung zukomme. Winterstein, 1909 (45), wies nach, dass die Blutflüssigkeit ausserordentlich arm an Sauerstoff und Kohlensäure sei, Henze (14) konnte dies bestätigen; eine respiratorische Bedeutung lehnten beide ab.
Henze isolierte das Vanadium aus grünschimmernden, maulbeerartigen Zellen, die Webb, 1939 (43), erstmals Vanadozyten nannte, und die ca. 60 % aller Zellen (nach Endean , 7 , 98%) ausmachen sollen. Als 3-wertiges Vanadium ist es mit einer 3 %igen Schwefelsäure (nach Henze; nach Webb,44, 9%) organisch gebunden und wird als Chromoproteid betrachtet. Dieses Chromoproteid, als Hämovanadin, enthält Pyrrol-Ringe in Ketten und ist im Aufbau den Gallenfarbstoffen ähnlich (Webb,1939,43 ,). Die Analyse des Proteins ergab 15 papierchromatisch nachweisbare Aminosäuren (Bielig 1954/55, 3). Das Hämovanadin ist nicht mit anderen Chromoproteiden, wie Hämoglobin oder Hämocyanin zu vergleichen, denn aufgenommenen Sauerstoff gibt es nicht mehr ab. Da das Plas-

ma an CO_2 arm ist, ärmer als das Meerwasser, wird angenommen, dass Kohlensäure verbraucht wird. In diesem Zusammenhang erwog Henze (1932,16), ob dieses Chromogen nicht als Katalysator (starkes Reduktionssystem") eine Rolle spiele bei der Reduktion von Kohlensäure unter Einfluss von Licht, um auf diese Weise den Cellulosemantel aufzubauen. Vanadium findet man nicht nur bei Tunicaten; die Holothurie, Genus Stichopus badionotus, hat einen hohen Vanadiumgehalt; bei einer Spezies der Mollusken, Pleurobranchus plumula und einigen Pflanzen kann man ebenfalls Venadium nachweisen; aber Funktion und Bedeutung sind hier ebenso unbekannt.

Endean (1954, 7) griff Henzes Gedanken auf, untersuchte die australische Spezies der Ascidien, Pyura stolinifera und fand bei ihnen Zellen, die weitgehend den Vanadozyten gleichen, auch in der organischen Bindung an Schwefelsäure, die jedoch statt der Vanadiumverbindung eine Eisenverbindung enthalte. Seine " Ferrozyten " würden an der Bildung der Testa teilnehmen. Später, 1960/61,8) stellte er in den Vanadozyten der Phallusia mamillata ein Polysaccharid fest, das er für eine Vorstufe der Cellulose (Tunicin) hält. Unterstützt durch elektronenmikroskopische Beobachtungen würden die vollentwickelten Vanadozyten in die Testa wandern, dort ihren sauren und Vanadium-haltigen Inhalt verlieren und feine Fortsätze bilden, die sich in der Testa-Matrix ausbreiten und ein feines Maschenwerk herstellen; die Zelle selber soll zugrunde gehen.

Ob es sich hier um endgültige Befunde handelt, ist z.Zt. noch nicht erwiesen.

Auch über die Natur und Funktion der sog. " Pigmentzellen" ist unser Wissen noch sehr gering. Diese Zellen sind nicht bei allen Tieren von gleicher Farbe; je nach Art oder Gattung wechselt das Pigment von rot über die ganze Farbskala bis zu blau. Die " Pigmentzellen " sind im Mantel gehäuft zu finden und sollen dem Tier die spezifische Farbe geben. Der Inhalt dieser Zellen ist auch noch nicht endgültig abgeklärt; bei manchen " Orange cells " z.B. stellte man Carotine, Guanine, Xanthine fest; Endean fand

ein Melanin und nimmt an, dass dieses einen Schutz gegen die ultravioletten Strahlen gewähre. Aber Pigmentzellen sind auch um den Peribranchialraum reichlich vorhanden.

Methodik der Untersuchungen.

Unsere Tiere (Phallusia mamillata, Ascidia mentula und Ciona intestinalis) wurden uns von der Stazione zoologica di Napoli in grosszügiger Weise zur Verfügung gestellt. Die Blutentnahmen erfolgten im Dezember 1957, Mai/Juni 1958 und Oktober 1961. Die Untersuchung der ersten Blutentnahme erfolgte durch Bielig biochemisch und durch Undritz morphologisch, über deren Resultate ich später noch berichten werde. Die rein morphologischen Untersuchungen der übrigen Blutentnahmen wurden durch die Autorin, geleitet durch Herrn Dr. Undritz, fortgesetzt.

Das Blut haben wir, nach sorgfältigem Abpräparieren der Testa, mittels Punktion des Herzschlauches dem noch schlagenden Herzen entnommen. Ein Teil der auf dieser Weise gewonnenen Blutflüssigkeit wurde sofort auf den Objektträger getropft und nach der von Undritz beschriebenen Methode (39) ausgestrichen, ein anderer Teil vor dem Ausstreichen erst sedimentiert. Zentrifugation: 2000/min. Das Ausstreichen des reinen Ascidienblutes ist mit grossen Schwierigkeiten verbunden, denn, Dank des hohen Salzgehaltes auch in der Leibeshöhlenflüssigkeit, trocknet das ausgestrichene Material nur sehr langsam; bei dem Färben folgt eine weitere Schwierigkeit: das Salz löst sich in der Färbeflüssigkeit wieder auf und schwemmt das ausgestrichene Zellenmaterial mit fort. Am ehesten liessen sich die Zellen, nach Vermischung mit menschlichem Serum 1:2 auf den Objektträgern zum Haften bringen und brauchbare Ausstriche erzielen. Die Zugabe des menschlichen Serums verändert die chemischen Eigenschaften der geformten Elemente der Ascidien in keiner Weise. Es verunreinigt auch nicht das Ascidienblut, da es keinerlei geformte Elemente enthält; es ist sogar vorteilhaft, Serum zuzusetzen, weil dadurch die Konturen der Zellen beim Eintrocknen nicht so bizarr verformt werden. Es wurde das gepolte Standardserum des Zentrallaboratoriums des Blutspendedienstes des schweiz. Roten Kreuzes in Bern genommen.

Die Hälfte des so mit Humanserum gemischten Blutes wurde wie-

derum sofort ausgestrichen, der Rest erst sedimentiert. Dann wurden die Ausstriche, wie üblich bei Zimmertemperatur getrocknet und nach den gleichen Methoden wie das menschliche Blut gefärbt.

Das unvermischt ausgestrichene Blut unterscheidet sich mikroskopisch stark von dem, das mit Humanserum gemischt wurde. Bei ersterem ist das ganze Präparat mit Salzkristallen von der getrockneten Blutflüssigkeit übersät, die Blutkörperchen sind in Häufchen zusammengeballt und selten isoliert, meist unter den Kristallen gelegen; eine Identifizierung ist schwer möglich. Siehe Abb. 1A. Die Blutflüssigkeit, mit menschlichem Serum vermischt, bildet an dickeren Stellen schönste Dendritenformationen, Abb. 1B, an dünnen Stellen eine gleichmässige, homogene Schicht, in welcher die Blutzellen regelmässiger verteilt, dünn ausgebreitet und unverformt sind. Die Verteilung der Blutzellen ist jedoch nicht auf allen Objektträgern gleich, sie wechselt innerhalb des gleichen Tieres bei gleicher Ausstrichmethode sehr stark; ein Auszählen des relativen Verhältnisses der einzelnen Zellen wird damit sehr ungenau. Dort, wo sich Zellhaufen gebildet haben, ist eine Differenzierung ohnehin nicht möglich.

Beim Färben hielten wir uns an die, in den "Haematologischen Tafeln Sandoz" (35) beschriebenen Färbemethoden, worauf verwiesen sei. Um die Vanadozyten spezifisch nachzuweisen, haben wir einen Teil der Ausstriche dem Osmiumsäure-Dampf (1%ig, OsO_4) ausgesetzt; die Vanadozyten werden dabei schwarz und lassen sich schön von den übrigen Zellen unterscheiden.

Die Befunde wurden mikrophotographisch von Dr. Undritz und meiner Assistenz festgehalten. Wir benutzten den Leitz Panphot, mit einer Niedervoltglühlampe für 6 Volt, 5 Amp. Die Aufnahmen wurden mit der Leica, auf Kleinbildformat 24 x 36 mm gemacht. Als Filmmaterial benutzten wir für schwarz - weiss - Aufnahmen den Agfa Isopan I FF 13, mit Gelbfilter, für die Farbaufnahmen den Agfa - Umkehrfilm CT 18 mit Blaufilter. Leider kamen für die Reproduktionen nur die schwarz - weiss Aufnahmen in Frage.

Wir haben uns lediglich auf die rein morphologischen Untersuchun-

gen beschränkt und verzichteten auf die Auszählung des quantitativen Blutbildes und die Erforschung der Blutbildungsstätten, ein Gebiet, das noch nicht restlos abgeklärt ist. Beides erfordert ein gesondertes Studium und hätte unsere Fragestellung: Deskription und Zuordnung der verschiedenen Zellarten weit überschritten.

Beschreibung und Vergleiche der Blutzellarten.

Ausgehend vom Blute der Menschen und der Säugetiere werden neun Typen von Zellen unterschieden: zwei Erythrozytentypen: die Normozyten und die Megalozyten; sieben Leukozytentypen: Neutrophile, Basophile, von denen 2 Arten existieren, die Blutbasophilen, mit Methanol-löslicher und die Gewebsbasophilen, mit Methanol-unlöslicher Granulation, Eosinophile, Monozyten, Plasmazellen, die Lymphozyten, und bei den primitiven Wirbeltieren die Thrombozyten, denen bei den Säugern und dem Menschen die Megakaryozyten-Plättchen entsprechen. Viele Evertebraten enthalten respiratorische Pigmente, Hämoglobine in Lösung, wenige in Erythrozyten; andere, sehr viele Evertebraten benötigen weder respiratorische Pigmente, noch Erythrozyten, da bei ihnen der Sauerstoff durch die Körperoberfläche direkt hineindiffundiert (z.B. gewisse Plathelminthen) oder wie bei den Insekten, durch ein atmendes, stark verzweigtes Trachealsystem direkt in das Innere des Körpers zu den einzelnen Zellen gelangt.

Das Untersuchen des Ascidienblutes gehört zweifellos zu den schwierigsten Kapiteln der Morphologie des Evertebratenblutes. Von allen Ascidien scheinen jedoch die Verhältnisse bei der Phallusia mamillata am klarsten zu sein. Wir haben zunächst mit der Untersuchung dieser Spezies begonnen, dann mit der Ciona int. und Ascidia ment. verglichen. Ganz allgemein sei vorweggenommen, dass die Tiere nur Leukozyten und eine "Pigment"zellart besitzen, und, dass keine Zellen, die sich rot wie die Erythrozyten färben lassen und die für Hämoglobine weitgehend spezifische Lepehne - Reaktion geben, vorkommen.

Bei der Beschreibung von Farbeffekten handelt es sich hier um Farben im Originalpräparat, die auf schwarz-weiss Abbildungen nicht wiedergegeben werden können. Oft liess sich eine Luftbläschenbildung im Immersionsöl unter oder auf den Zellen nicht vermeiden; diese imponieren dann als kleine lichtbrechende, kugelige Gebilde, die besonders gern auf den Granula zu finden sind.

Die Original - Leica - Mikrophotographien haben meist eine Vergrösserung von 1:500, die der schwarz - weissen Papierabzüge eine von 1:1200. Vergrösserung und Färbetechnik sind jeweils unter den Aufnahmen vermerkt.

Die Durchmesser der Blutkörperchen, die an diesen Ausstrichen gemessen wurden, sind auch, wie die Blutkörperchen aller anderen Tiere, vom Grad der Ausbreitung abhängig. Im allgemeinen ist der Durchmesser an dicken Ausstrichstellen kleiner, weil die Zellen weniger ausgebreitet sind als an dünnen. Der Unterschied zwischen vollständig ausgebreiteten, aber noch intakten Elementen und nicht ausgebreiteten Blutzellen kann das Doppelte und mehr ausmachen. Im folgenden Text sind in runden Klammern() die Durchmesser der erwähnten Elemente in µ angegeben, in eckigen [ ] Klammern die Zahl der Bestimmungen.

Die Vanadozyten. Abb.7

Die Vanadozyten sind ungefärbt stark lichtbrechend, was bei Blutzellen sonst nicht vorkommt, Abb.9. Gewisse Parasiten, z.B. die Sporen des Blastomyces sind in Lymphdrüsenpunkteten des Menschen lichtbrechend. Webb, 1939, (43), gab ihnen erstmals diesen Namen, weil sie sich durch eine besondere Eigenart charakterisieren lassen; sie zeigen als Nachweis für das Vorhandensein des Chromogens Vanadium eine pos. Osmiumsäurereaktion und sind dann schwarz bis schwarzviolett bei der Phallusia mamillata, blassen allerdings nach einigen Monaten wieder ab. Diese osmiumpositive Substanz bildet eine schmutzig-graue Umhüllung der Zelle, die im Innern aus 1-1½ Dutzend grossen lichtbrechenden Granula, einem noch grösserem Partikel und dem Kern besteht. Abb. 7A,a. Die Hülle dringt septenförmig zwischen die Granula hinein, so, dass die ganze Zelle mit einem Granatapfel vergleichbar ist, da dessen lederartige Haut ebenfalls septenförmig nach innen zwischen die Körner dringt. Die Hülle ist sehr leicht verletzbar, wird durch mechanische, vielleicht auch osmotische Einflüsse abgehoben und liegt dann oft neben der nackten, enthüllten Zelle.

Vielleicht dient diese Hülle als Schutz vor dem stark hypertonen Milieu (Undritz,41). Die Granula (1,0 - 4,0 µ [22]) der mit Pappenheim nachgefärbten Zellen (5,6 - 14,5 µ [100]) sind rot, also acidophil. Die Partikel (3,4 -6,7 µ) ist ebenfalls rot, jedoch etwas mehr livide verfärbt. Die Kerne (1,6 , 3,0 µ [32]) sind, wie üblich, violett. Es handelt sich nach Undritz um neutrophile Leukozyten (41) von der Art der Pseudoeosinophilen, die kein Aequivalent zu den Erythrozyten der Wirbeltiere und anderer Evertebraten sein können, was gut mit den Literaturangaben übereinstimmt, dass ihnen keine Sauerstoff vermittelnde Aufgabe zukommt. Die in der Einzahl vorhandene grössere Partikel ist in ihrer Bedeutung nicht definierbar. Kollmann nennt sie "une volumineuse vacuole excentrique également sphérique". Die für Hämoglobine sehr spezifische Lepehnereaktion ist negativ. Andere Färbemethoden weisen keine Reaktion auf, doch nehmen die Vanadozyten bei der Eisenfärbung einen leicht gelbbräunlichen Farbton an, ähnlich dem der Flavozyten, über die wir weiter unten noch berichten.

Bei der Ciona intestinalis haben die Vanadozyten einen ähnlichen Aufbau, sie sind nur kleiner (Abb.7,C) und weniger deutlich zu differenzieren (Durchmesser zwischen 3,5 - 8,7 µ [24], Kern 1,0 - 3,0 µ [23], Granulum 0,7 - 3,7 µ [20]). Die Osmiumsäurereaktion der Hülle fällt wesentlich schwächer aus, die Zellen sind hier nicht schwarz, sondern gelbbraun, mit unregelmässiger Verteilung der Reaktion, einzelne grössere Granula sind deutlicher Osmiumsäure - positiv. Die Vanadozyten der Ciona int. breiten sich nicht flach aus, sie bleiben kugelig und können mit Schwesternzellen zusammenballen.

Bei der Ascidia mentula haben die Vanadozyten einen Durchmesser von 8,0 - 14,4 µ [25], der Kern einen solchen von 1,7 - 2,9 µ [15] und das Granulum von 1,7 - 3,2 µ [3]. Die Zellen werden unter Osmiumsäure grauschwarz bis schwarz; die nackten Zellen werden bei Färbung nach Pappenheim nicht eosinophil wie bei der Phallusia mamillata, sondern gelb. (Abb. 7 B).

Die Vanadozyten entsprechen den "amibocytes à graisse" von Cuénot, den "cellules adipeuses" von Kollmann, den "morula

und "green cells" von George und Ohuye. Einige Autoren (George, Endean) berichten über das Vorkommen von "compartment cells", Elemente, die nur schwach oder gar nicht osmiumpositiv sind. Es handelt sich offenbar um aus der Hülle geschlüpfte Vanadozyten, wie sie in Abb. 7 A,a zu sehen sind. Hüllenhaltige Vanadozyten, die nicht sehr lang dem Osmiumsäuredampf ausgesetzt und ein wenig zerdrückt sind, können ähnlich aussehen.

Die Basophilen. Abb. 6

Durchmesser 8,4 - 14,7 µ bei Ascidia mentula, 8,5 - 10,5 µ bei Ciona intestinalis. Sie sind nur ganz vereinzelt im Blute der Phallusia mamillata von uns beobachtet worden. Ihnen sind ziemlich grosse, metachromatische Granula eigen, die resistent sind gegenüber der Methylfixation. Bei der Ciona int. treten sie häufiger auf. In dicken Ausstrichstellen bilden sie die sog. "Kugelhaufen". Die Ascidia mentula weist ebenfalls mehr Basophile auf als die Phallusia mam. Die Kerne sind bei allen 3 Spezies rund und gleichen denen anderer Zellen. Am ehesten sind diese Blutkörperchen den Gewebsbasophilen oder Basophilen mit unlöslicher Granulation des Menschen vergleichbar, die beim Menschen nur bei der Gewebsbasophilen - Leukämie in das Blut gelangen, hingegen bei gewissen Coleopteren, den Maikäferarten, schon normalerweise in grosser Zahl im Blut zirkulieren (Undritz,32). In früheren Publikationen werden sie als Gewebs - Mastzellen bezeichnet, auch "cellules sphéruleuse".

Durchmesser der Basophilen bei der Phallusia mamillata 12,0 µ, der Granula bis zu 2,4 µ.

Die Flavozyten. Abb. 8 und 9

In den ältesten morphologischen Arbeiten sind sie von einigen Autoren für Parasiten gehalten worden (s. Kollmann, S.42,20), andere stritten diese Interpretation jedoch entschieden ab. Sie ist wohl die einzige Zellart der Ascidien, die von allen Untersuchern in der gleichen Art beschrieben wird; alle meinen dieselbe Art, bezeichnen sie ähnlich als "amiboocytes orangées, cellules pigmentés, orange cells" etc. Im Nativpräparat fallen sie bereits durch ihre intensive gelb-orange Farbe auf. Sie sind bei der Phallusia mamillata aus 6 oder mehr, meist fusiformen, lichtbrechenden Kristallen zusammengesetzt, die wohl gelb, mitunter aber auch grünlich schimmern, mit einem Durchmesser von 7,2 bis 12,4 μ(39), und leicht lichtbrechend sind (Abb. 9). Im Zentrum liegt ein kleiner runder Kern, etwa von der Grösse der rotvioletten Granula der Vanadozyten und der Monozytenkerne (1,7 - 3,5 μ,[24]). Die Kristalle können bei der gleichen Zelle verschieden spitz und von verschiedener Grösse und Form sein, selten sind sie jedoch kugelrund, wie Kristall, das an der Hitze schmilzt. Bei der Ciona intestinalis gehören die Flavozyten zu den kleinsten Zellen und sind nicht grösser als die reifen Monozyten (Durchmesser 3,8 - 9,3 μ[6]). Ihre Granula (0,7 - 2,2 μ[21]) sind klein, rund, sehr dicht gelagert und kaum voneinander zu unterscheiden. Die meisten Flavozyten enthält die Ascidia mentula, sie können bei ihr in mannigfaltigen Formen auftreten, in Sternformen, Rosettenformen, Mandelformen, indessen dominiert die Morulaform (Durchmesser 5,4 - 14,7 μ[17]). Die Granula (3,5 - 3,7 μ[1]) sind meist spindelförmig, aber es kommen auch viele runde vor, die nicht leuchtend goldgelb wie bei Phallusia mam. und Ciona int. sind, sondern grüngelb. Bedeutung und Funktion dieser Zellen sind noch unbekannt.

Gehäuft findet man sie im Mantelgewebe einiger Ascidien, sie verleihen dabei dem Tier ihre besondere Farbe. Sie befinden sich aber auch in grosser Anzahl um den Peribranchialraum,

ganz selten im Darmtrakt.

Die Eigentümlichkeit der Flavozyten zeigt sich in der Resistenz gegenüber jeglichen Färbungen, sie verändern ihre Farbe nicht, sind chromophob, aber eigengefärbt. Nur bei lang aufbewahrten Osmiumsäurepräparaten nehmen sie wie bei der Phall. mam. eine graue Tönung an und an ganz dünnen Stellen blasst die gelbe Farbe weitgehend ab. Es ist noch nicht endgültig abgeklärt, um was für ein Pigment es sich hierbei handelt. Wir möchten sie für Eosinophile halten. Die Eosinophilen der Säugetiere sind die Zellen, die auf Peroxydase am intensivsten positiv reagieren. Mit der Peroxydase - Reaktion nach Lepehne, die spezifisch für Hämoglobin ist, reagieren auch die Eosinophilen positiv. Die Peroxydase - Reaktionen nach Graham - Knoll und nach Lepehne sind bei allen Zellen negativ, die Flavozyten werden aber graubraun, was als "direkter Hinweis" für die eosinophile Natur dieser Zellen angesehen werden kann. Eosinophile mit fusiformen Granula kommen bei verschiedenen Wirbeltieren, Säugern und Nichtsäugern vor, wenn auch die runde Form vorherrscht. Dass die Granula der echten Eosinophilen keineswegs immer eosinophil zu sein brauchen, haben Undritz, Lang und von Oye (37) gezeigt: sie sind bei der braunen Hyäne (Strandwolf, Hyaena brunnea) und beim Königsgeier (Gypagus papa) basophil nicht metachromatisch und färben sich daher nach Pappenheim rein blau und bei der Streifenhyäne (Hyaena crocuta) sind sie chromophob, sie sehen wie farblose Vakuolen aus. Es ist daher durchaus möglich, dass die Flavozyten bei den Ascidien die Stelle der Eosinophilen einnehmen. Das ist näherliegend, als sie als besondere Zellen zu betrachten, die dann nur bei einer Tiergruppe vorhanden wären. Vielleicht werden weitere Untersuchungen das Problem der Flavozyten eindeutig klären.

Die Monozyten. Abb. 2

Monozyten kommen nach Undritz (32) bei allen niederen Tieren, die Blut aufweisen, ohne Ausnahme vor. Georges (9) beschrieb bei den Tunicaten mehrere Zellen: die " signet - ring cells", die den "amibocytes de reserve à vacuoles" von Cuénot (5) entsprechen dürften, die "macrophages", denen er die "hématies" von Cuénot gleichstellte und die sog. "nephrocytes" und "glomerulocytes", die er nur bei Polyandrocarpa tincta fand. Nach der Beschreibung dürfte es sich um die Monozyten handeln, die reichlich bei den Ascidien vorkommen und die typischen Charakteristika: Phagozytose, Athrozytose zeigen können und deren Entwicklungsstadien gut zu verfolgen sind. Auch die "lymphocytes" von Endean (7), 1960, seine "phagocytes, amoebocytes with vacuoles, signet - ring cells und cells with reflecting discs" dürften nichts anderes sein, als die verschiedenen Funktionsformen dieser Zellart. Der Monozyt ist ja die polymorphste Zellart (Undritz,34), er ändert sein Aussehen je nach seiner funktionellen Beanspruchung. Im gesunden menschlichen Blute kommen nur Monozyten von gleicher Grösse und Gestalt vor; aber schon beim gesunden Embryo und Foetus, wie auch bei sehr vielen Vertebraten und Evertebraten sind die verschiedenen Funktionsformen der Monozyten im Blute zu finden. Beim erwachsenen Menschen kommen sie normalerweise nur im Knochenmark und anderen inneren Organen vor, bei Krankheiten, besonders Infekten gelangen sie auch ins Blut. Bei den Ascidien erkannte übrigens Andrew, 1961 (1) die verschiedenen Erscheinungsformen seiner "large amoebocytes" und bemerkt hierzu: "the variation in the appearance of the large amoebocytes is noteworthy", folgert dann, die Verschiedenheiten seien wahrscheinlich "of functional nature" und vergleicht sie mit den Macrophagen der Wirbeltiere, die ja nichts anderes sind als Monozyten.

Infolge dieser ausserordentlichen Vielgestaltigkeit ist die Möglichkeit einer falschen Deutung leicht gegeben.

Der Durchmesser der Monozyten bei der Phallusia mamillata

schwankt zwischen 3,9 und 13,3 µ [42]. Sie liegen oft zusammengeballt und imponieren wie Schleim; ihr Protoplasma ist faserig, wie fibrinös; oft sieht man ganze Haufen der kleinen Kerne reifer Monozyten, doch sind immer schlierige Protoplasmaauszüge erkennbar. Das Protoplasma der jüngeren Formen ist mehr oder weniger hyalin, polychromatisch, also blau, mit einem Stich in's rosa gefärbt. Ihr Kern ist etwas grösser als der reifen Stadien (5,8 - 8,3 µ [3]). Die Peroxydasereaktion war bei den von uns untersuchten Ascidienarten negativ; Ohuye (24) beobachtete hingegen eine positive Reaktion.

Bei der Ciona intestinalis sind die Monozyten relativ grosse Zellen, mit einem Durchmesser von 2,7 - 11,0 µ [37], die oft viele Ausläufer haben und sich flach ausbreiten. Das Protoplasma ist nicht sehr scharf abgegrenzt, der Kern ist pyknotisch. Die reifsten Formen scheinen ihr Protoplasma teilweise zu verlieren. Schliesslich sieht man nur pyknotische Kerne mit Protoplasmaresten, die in wenigen Zipfeln oder Schlieren sternförmig ausstrahlen. Manchmal enthalten die Monozyten viel feinste kokkenförmige Granula, die dann eher polychromatisch gefärbt sind.

Die "beaded appendages" der "vacuolate cells" von Andrew (1)(Monozyten?), die er im Phasenkontrast bei Ascidia atra beobachten konnte, und die er in gewisse Beziehung zu den Blutplättchen höherer Wirbeltiere bringt, können wir nicht deuten. Es können artifiziell verunstaltete Eigenzellen, aber auch Parasiten sein. Wir haben diese Elemente bei der Ciona intestinalis gefunden. Die fadenförmigen Anhänge können sehr deutlich gesehen werden, auch die perlenschnurartige Anordnung runder, kleiner kugelförmiger Gebilde innerhalb der z.T. sehr langen Fäden; dass das letzte Kügelchen am dicksten ist, können wir an unseren Präparaten bestätigen.

Die Monozyten der Ascidia mentula, mit dem Durchmesser 4,4 - 12,4 µ [5], zeigen ebenfalls häufig Phagozytose. Ciona intestinalis und Ascidia mentula besitzen sehr viel phagozytierende Monozyten mit Vacuolen. Meist enthält die Zelle eine einzige Riesenvacuole, der Kern wird seitlich verdrängt und ist von einem schmalen Protoplasmasaum ungeben; so bekommt sie ein siegelring-

artiges Aussehen und wurde von einigen Autoren auch so benannt. Auf Tabelle 1 sind die Synonyma der von uns als Monozyten angesehenen Zellen angegeben, auf Tabelle 2 die Synonyma der übrigen Blutkörperchenarten.

Die Plasmazellen. Abb. 3 - 5

Neben den Monozyten werden auch diese Zellen bei den Evertebraten nach Undritz (32) eigentlich nie vermisst. Wenn Evertebraten Blut besitzen, so sind diese beiden Zellarten - der Monozyt mit seiner trophischen und antixenischen Funktion - und die Plasmazelle als Bluteiweisstransformer - offenbar unentbehrlich. Viele Evertebraten haben nur diese zwei Zellarten. Das Vorkommen aller anderen Blutkörperchenarten ist hingegen fakultativ, die eine oder andere kann zusätzlich bei gewissen Spezies vorhanden sein. Heute noch wird das farblose Blut vieler Evertebraten als Lymphe oder Haemolymphe und die Monozyten und Plasmazellen als Lymphozyten (Endean noch 1960, 7) bezeichnet. Es ist nach Undritz ein alter Irrtum, der einerseits auf dem Kurzschluss beruht, dass farbloses Blut Lymphe sein muss, weil Lymphe auch farblos ist und andererseits darauf, dass bei allen Evertebraten, mit ganz wenigen Ausnahmen, z.B. den Cephalopoden, die Leukozyten rundkernig sind. Reife runde Kerne sind aber bei Neutrophilen, Eosinophilen und Basophilen lediglich ein Zeichen der Primitivität und kommen auch bei primitiven Vertebraten, z.B. dem Quastenflosser (Coelacanth) vor. Völlig übersehen wird die hohe Phagozytosefähigkeit der Monozyten, die bei Lymphozyten nie vorkommt und das Fehlen irgendwelcher histologisch nachweisbarer lymphozytärer Formationen.

Die Plasmazellen sind im Blute der Phallusia mamillata selten. Es sind runde, rel. kleine Zellen, deren Durchmesser 3,9 - 3,5 µ (4) beträgt, mit einem dunkelblauen Protoplasma, das rel. häufig auch Vacuolen enthält. Der Kern (2,6 -3,4 µ (4)) ist grösser als der anderer Zellen, mitunter von dem typischen hellen Hof, dem Archoplasma umgeben, wenn die Plasmazelle keine Einschlüsse hat. Zweikernige, also polyploide Zellen, meistens tetraploide mit zwei diploiden Kernen, wurden schon in den

Zellbezeichnungen für Zellen, die unseren Monozyten entsprechen

Cuénot	Kollmann	George	Ohuye	Webb	Endean	Andrew
		Lymphocytes	hyaline cell, small lymphocyte type		phagocytes	small amoebocytes
		finely gran. am.	fine gran.am. cells			
cell. incolorés vésiculaires	cell.réticulées	colourless compartment cells	amoeboid compartment cells		compartment cells	reticulated amoebocytes
am.de reserve à vacuoles	cell.vacuolaires	signet-ring cells	signet-ring cells		signet-ring cells cells with acidic vacuoles	unilocular vacuolated cells
hématies	cell.vacuolaires	macrophages coarsely gran. am.	haline cell of monocyte type coarsely gran. am.	large vesicular cells	am.with vacuoles	large amoebocytes bilocular vacuol.cells
cell.vésiculaires	leucocytes granulés		vesicular am. cells			threelocular vacuol.cells
		brown cells nephrocytes glomerulocytes	brown cells	brown & purple cells		brown cells

Tabelle 1

Zellbezeichnungen für die übrigen Blutkörperchenarten

Cuénot	Kollmann	George	Ohuye	Webb	Endean	Andrew	Unsere
am.typiques	Leucocytes halins, stades I	Lymphocytes	hyaline cell of small lymphocyte type		Lymphocytes	small amoebocytes	Plasmazellen
am.à graisse	cell. adipeuses	green cells colourless morula cells	colourless morula cells	Vanadocytes colourless morula	Vanadocytes	green cells	Vanadozyten mit Hülle Vanadozyten ohne Hülle
Mastzellen	Mastzellen cell.sphéruleuses	blue pigment cells	blue pigment cells		-	blue cells	Basophile
am.orangés	cell pigmentés	orange cells	orange cells	red and orange pigment cells	pigment cells	orange cells	Flavocyten

Tabelle 2

ältesten Publikationen beschrieben; wir konnten auch zahlreiche solcher Zellen feststellen. Das Vorkommen von Diploidie oder Polyploidie ist bei Zellen von fixen Geweben häufig (Undritz, 35,36,38). Die Plasmazellen sind keine eigentlichen Blutzellen, sondern gehören eher zu den fixen Geweben. Dafür würde auch sprechen, dass sie eher in geringer Zahl im Blute vorkommen, weil sie sich nur gelegentlich ablösen. Mitosen und Protoplasmaeinschlüsse konnten beobachtet werden. Auffallend häufig beobachteten wir die von den Plasmazellen gebildeten "Russel" - Körperchen, die bei Ciona und Ascidia grosse Ausmasse annehmen können, besonders, wenn sie frei im Blute zu finden sind, und wie beim Plasmozytom des Menschen durch Apposition so grosse Ausmasse annehmen (Durchmesser 3,9 - 10,2 µ [10]; Abb. 4 und 5).

Auch die Plasmazelle der Ciona intestinalis zeigt das tiefblaue Protoplasma, das sehr häufig rote homogene, offenbar eiweisshaltige Einschlüsse enthält. Der Kern ist rund, dicht, oft schollig und violett. Bei der Ascidia mentula kommt die Plasmazelle (Durchmesser 6,0 - 12,0 µ [12]) rel. häufig vor und besonders hier fanden wir zahlreiche Zellen mit grossen Kernen.

Cuénot (5) nannte die Plasmazellen "amibocytes typiques", Kollmann (20) "leucocytes hyalins, stades I et II", George "lymphocyt", Ohuye "hyaline cell of small lymphocyte type". Die Durchmesser der Blutzellen und ihrer Bestandteile bei den drei verschiedenen Ascidienarten sind auf Tab. 3 übersichtlich zusammengestellt.

Zell-, Kern- und Granula-Durchmesser in µ

Tiere	Zellart	Zelle	Kern	Granula	"Partikel"	Vacuolen
Phallusia mamillata	Vanadozyt	5,6 - 14,5	1,6 - 3,0	1,0 - 4,0	3,4 - 6,7	
Ciona intestinalis	"	3,5 - 8,7	1,0 - 3,0	0,7 - 3,7	-	
Ascidia mentula	"	8,0 - 14,4	1,7 - 2,9	1,7 - 3,2	-	
Ciona int.	Basophile	8,5 - 10,5				
Ascid.ment.	"	8,4 - 14,7				
Phall.mam.	Flavozyt	7,2 - 12,4	1,7 - 3,5	1,9 - 5,7		
Ciona int.	"	3,8 - 9,3	1,7 - 2,0	0,7 - 2,2		
Ascid.ment.	"	5,4 - 14,4	1,7 - 2,5	3,5 - 3,7		
Phall.mam.	Monozyt	3,9 - 13,3	2,3 - 6,5			
Ciona int.	"	2,7 - 11,0	1,0 - 4,7			
Ascid.ment.	"	5,4 - 12,4	1,3 - 5,1			
Phall.mam.	Plasmazelle	3,9 - 4,5	2,6 - 3,4			
Ciona int.	"	3,9 - 10,2	1,9 - 4,2			2,3 - 6,0
Ascid.ment.	"	6,0 - 12,0	1,5 - 5,2			0,5 - 7,5

Bei ausgezogenen Elementen wurde der Durchmesser bestimmt durch Addition des langen und kurzen Durchmessers, geteilt durch 2. Das ist besonders wichtig bei Berücksichtigung der spindelförmigen Granula der Flavozyten.

Tabelle 3

Die Endothelien (?) Abb. 10

Ausser den bereits beschriebenen Zellarten fanden wir, bes. bei der Phall. mam. polymorph begrenzte, hyaline Zellen, mit mehr oder weniger ausgezogenem oder rundem, blassrosa bis blauem Protoplasma und rel. kleinem reifen Kern. Sie liegen meist in kleinen Verbänden und könnten als bei der Herzpunktion abgelöste Endothelien angesehen werden. Wir haben diese besonders bei nicht mehr ganz frischen Tieren vorgefunden. Da sie jedoch bei einem Teil der Ascidien eine sehr starke PAS - positive Reaktion aufweisen, wäre die Frage, ob es sich nicht um Thrombozyten handeln könnte, zu diskutieren und durch weitere Untersuchungen abzuklären.

Schlussbetrachtung.

Unsere Arbeit ist nur als Versuch gedacht, eine gewisse Einheitlichkeit in der Typisierung der Blutzellen bei den Ascidien herzustellen. Wenn der Mensch alle Blutzellen enthält, die auch bei den Tieren vorkommen, und die Blutzellen im Tierreich sich bei allen Klassen, Gattungen und Arten wiederholen, dann könnte es auch möglich sein, die Blutzellen der Ascidien entsprechend zu klassifizieren. Tatsächlich bereitete das keine sonderlichen Schwierigkeiten, da die prinzipielle Homologie doch erkennbar war, wenn auch artbedingte Sekundärunterschiede zum Blut anderer Tiere, aber auch unter den drei untersuchten Ascidienarten zu berücksichtigen waren. Trotz der Annahme früherer Autoren, dass die Ascidien sehr viele verschiedenen Zelltypen aufweisen, konnten wir, beim Vergleich mit den Blutzellen anderer Evertebraten und Vertebraten feststellen, dass von den 9 Blutkörperchenarten der

Vertebraten fünf, evtl. sechs bei den Ascidien vorkommen, und dass die grosse Vielfalt durch verschiedene Entwicklungsstufen dieser Arten, alles Leukozyten, bedingt ist. Tabelle 4 zeigt das Resultat der Untersuchungen.

Sonst weisen Evertebraten nur zwei bis drei verschiedene Blutkörperchenarten auf. Vielleicht lässt sich die relative Vielfalt von Blutkörperchenarten bei den Ascidien mit ihrer phylogenetischen Einordnung zwischen den Evertebraten und Vertebraten erklären: mit den Evertebraten haben sie das Fehlen der Lymphozyten, der Thrombozyten der Nichtsäuger (noch nicht eindeutig) und der homologen Megakaryozyten - Plättchen der Säuger , wie auch deren Normozyten gemeinsam und mit ihrem vollständigeren Leukozytensatz leiten sie zu den Wirbeltieren über.

Wir haben bei den Ascidien nicht nach speziellen Blutbildungsstätten gesucht; das ist, wie schon einmal erwähnt, ein Problem, das gesondert bearbeitet werden muss.

Bei allen Zellelementen sind Mitosen im Blute zu finden, was dafür spricht, dass die Proliferation jedenfalls teilweise im Blute stattfindet. Einige Autoren beschreiben auch amitotische Zellteilungen, u.a. glaubte Andrew (1) solche im Phasenkontrast und elektronenmikroskopisch zu beobachten, doch dies dürften Artefakte sein (Undritz,30).

Zusammenfassung.

Das Ascidienblut der Phallusia mamillata, Ciona intestinalis und der Ascidia mentula wurde nach den heute üblichen allgemeinen und spezifischen Färbemethoden und histochemischen Reaktionen des Blutes untersucht. Alle 3 Tierarten enthalten folgende Blutkörperchen ,alles Leukozyten: Monozyten, Plas-

Die im Tierreich vorkommenden Blutkörperchen

Zellart	Wirbellose (Evertebraten) *						Ascidien	Wirbeltiere (Vertebraten)	
	a	b	c	d	e	f	(Chordaten)	Nichtsäuger	Säuger
Monocyten	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Plasmazellen	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Basophile mit löslicher Granulation	-	+	-	-	-	-	-	+	+
Basophile mit unlöslicher Granulation	-	-	+	-	-	-	+	+	+
Eosinophile	-	-	-	+	-	-	+ **	+	+
Neutrophile	-	-	-	-	+	-	+ ***	+	+
Megalocyten	-	-	-	-	-	+	-	+	+ embr.
Thrombocyten (T) bzw. Megakaryocyten-Plättchen (M-P)	-	-	-	-	-	-	?	+ (T)	+ (M-P)
Lymphocyten	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Normocyten	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* a, b, c, d, e, f: verschiedene Arten von Wirbellosen

** Flavocyten *** Pseudoeosinophilie, Vanadocyten

Tabelle 4

mazellen, Basophile mit unlöslicher Granulation, Flavozyten (Eosinophile) und Neutrophile, resp. Vanadozyten (Pseudo - Eosinophile), evtl. auch Thrombozyten. Erythrozyten oder andere Sauerstoffüberträger konnten nicht gefunden werden.

Lymphozyten fehlen. Die bisherige Auffassung früherer Autoren über Ascidienblut - Untersuchungen: der Lymphozyt sei die Stammzelle aller übrigen Zellarten, ist nicht haltbar. Die heutige polyphyletische Lehre, die besagt, dass jede Zellart ihre eigene Stammzelle besitze, ist morphologisch und färberisch zu beweisen. Eigentliche Stammzellen haben wir bei den Ascidien im Blute nicht gefunden, obwohl Mitosen bei allen Zellarten zu beobachten sind. Wahrscheinlich sind Blutkörperchen - bildende Nester, bei denen dann auch die spezifischen Stammzellen nachweisbar wären, in bestimmten Organan der Ascidien vorhanden, was ausserhalb unserer Fragestellung liegt und besonders erforscht werden müsste.

Literatur.
---

1. Andrew,W. Phase microscope studies of living blood cells of the tunicates under normal and experimental conditions, with a description of a new type of motile cell appandage.
   Quarterly journ.of micr.science,102,89 (1961)
2. Azéma,M. Recherches sur le sang et l'excrétion chez les ascidies.
   Annales de l'institut océanographique de Paris, 17,1 (1937)
3. Bielig,H.J.,Bayer,E., Califano,L.,WithC: Hämovanadin, ein Sulfato-Komplex des 3-wertigen Vanadiums.
   Pubbl.stat.zool.Napoli,25,26 (1954/55)
4. Bielig,H.J., u. Bayer,E.: Austausch- und Abbauversuche an Hämovanadin.
   Pubbl.stat.zool.Napoli,29,109 (1957)
5. Cuénot,L. Etudes sur le sang et les glandes lymphatiques dasn la série animale.
   Arch.zoolexpér.11, 2.Ser.,56 (1891)
6. Della Valla zitiert nach Cuénot,L. (5).
7. Endean,R. The blood cells of the ascidian Phallusia mamillata
   Quarterly journ.of micr.science,101,177 (1960)
8. " The test of the ascidian Phallusia mamillata.
   Quarterly journ.of micr.science,102,107 (1961)
9. George,W.C. A comparative study of the blood of the tunicates.
   Quarterly journ.of micr.science,81,391 (1939)
10. Handbook of Hematology, Hal Downey,2,703 (1938)
11. Handwörterbuch der Naturwissenschaften,10,40 (1935)
12. Harless zitiert nach Henze,M. (14)
13. Hausmann,M. Entstehung und Funktion von Gefässystem und Blut auf cellular-physiologischer Grundlage.
   Benno Schwabe, Basel,1935
14. Henze,M. Untersuchungen über das Blut der Ascidien
   Zeitschrift für physiol.Chemie,73,494,(1911)
14. Henze,M. Ueber das Vanadiumchromogen des Ascidienblutes.
   Zeitschr.für physiol.Chemie,86,340 (1913)
16. Henze,M. Ueber das Vanadiumchromogen des Ascidienblutes.
   Zeitschr.für physiol.Chemie,213,125,(1932)

17. Jordan,H.E. Comparative hematology, in Hal Downey, Handbook of hematology, Hoeber Inc.New York,Bd.2. 702,1938.

18. Knoll,W. Die embryonale Blutbildung beim Menschen. Berichte über d.St.Gall.Naturwissenschaften, St.Gallen, 1950.

19. Knoll,Ph. Ueber die Blutkörperchen bei wirbellosen Thieren. Sitz.ber.d.kaiserl.Akademie d. Wissenschaften Wien,102,Abt.III,440 (1893)

20. Kollmann,M. Recherches sur les leucocytes et le tissu lymphoide des invertébres. Ann.Sci.nat.zool.,8,2 (1908)

21. Kükenthal Handbuch d. Zoologie,Bd.5,Tunicaten,1956

22. Lacaze-Duthier zitiert nach Cuénot,L. (5)

23. Leydig,Fr. Lehrbuch der Histologie des Menschen und der Thiere. Verl. Meidinger Sohn u.Comp.,Frankfurt, 1857.

24. Ohuye,T. The histology of the blood of some Japanese ascidians. Sci.rep.Tohoku Univ.,11,92 (1936)

25. Rouget zitiert nach Cuenot,L. (5)

26. Roule zitiert nach Cuénot,L. (5)

27. Seeliger zitiert nach Kollmann,M. (20)

28. Undritz,E. Ueber das Vorkommen einer Familie im Wallis mit "pseudoregenerativem" weissen Blutbild (Pelger'sche Varietät). Folgerungen für die Hämatologie, Schweiz.med.Wochenschr.,64,10 (1934)

29. " Das ausschliessliche Vorkommen reifer rundkerniger Leukozyten bei der reingezüchteten Pelger-Hüetschen Anomalie der Kaninchen und die Bedeutung der Pelger-Leukozyten in der vergleichenden Hämatologie. Folia Haematologica,67,249 (1943)

30. " Zwillings- u.Mehrlingsmissbildungen, die Natur der "Riesen","Zwillinge" und "Amitosen" der Blutzellen. Folia Haematologica,68,225 (1944)

31. " Ueber die Leukozytenforschung,reaktive u. erbliche Besonderheiten der Leukozytenkerne. Schweiz.med.Wochenschr.,74,995 (1944)

32. " Les cellules sanguines de l'homme et dans la série animale. Schweiz.med.Wochenschr.,76,88,115 (1946)

33. Die nicht zur Blutkörperchenbildung gehörenden Zellen intravitaler Knochenmarkspunktate. Schweiz.med.Wochenschr.,76, 333 (1946)

34. Undritz,E. Die regionären Monozyten der Blutkörperchennester. Folia Haematol. 70,32 (1950)

35. " Hämatologische Tafeln Sandoz,Basel,1952.

36. " , Rothlin,E. Analyse u.Bedeutung der polyploiden Zellen in Blut, Knochenmark und Tumoren. Arch.d.Julius Klaus-Stiftung für Vererbungsforschung Soz.anthrop. u. Rassenhygiene,28,280 (1953)

37. " ,Lang,E.M.,Van Oye,E.: la réaction peroxydasique des eosinophiles comme moyen de taxonomie (classification) des mammifères. Extrait du sang,27,513 (1956)

38. " Mitose und Polyploidie. Internat.Sympos. über klin.Cytodiagnostik, Georg Thieme,Stuttgart,S.75,1958.

39. " Praktische Erfahrungen mit der Herstellung u. Reproduktion farbiger Mikrophotographie von Ausstrich- u. Tupfpräparaten. Internat.Sympos. über klin.Cytodiagnostik, Georg Thieme,S.61,1958.

40. " Experimentelle Eisenstoffwechseluntersuchungen und ihre Bedeutung für die Praxis. Wiener klin.Wochenschr.33,545 (1961)

41. " mündliche Mitteilung.

42. Wagner,N. zitiert nach Cuénot,L. (5)

43. Webb,D.A. Observations on the blood of certain ascidians. Journ.of exper.biology,16,499 (1939)

44. " The blood of tunicates and the biochemistry of Vanadium. Pubbl.stat.zool.Napoli,28,274 (1956)

45. Winterstein,H zitiert nach Henze,M. (14)

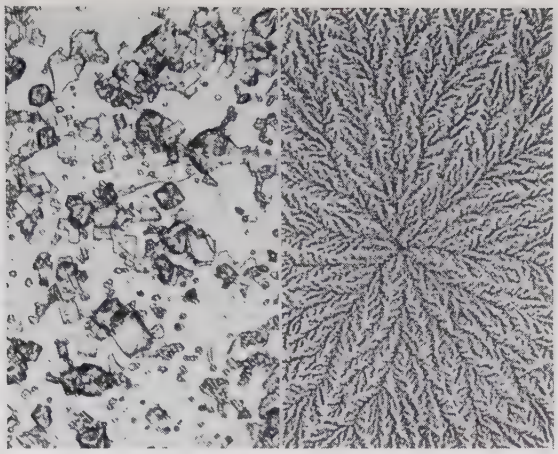


Abb. 1. Phallusia mamillata. Ungefärbte Blutausstriche. — A: Ohne Zusatz von Humanserum. Zahlreiche Salzkristalle, die sich beim Eintrocknen des hypertonischen Meerwassers in der Blutflüssigkeit gebildet haben. — B: Dasselbe nach Zusatz von Humanserum. Dicke Stelle, welche die Dendritenformation erkennen läßt. Keine Salzbildung mehr. An dünnen Stellen homogene Schicht, in welcher die Blutzellen gut erhalten sind und untersucht werden können. 250fach.

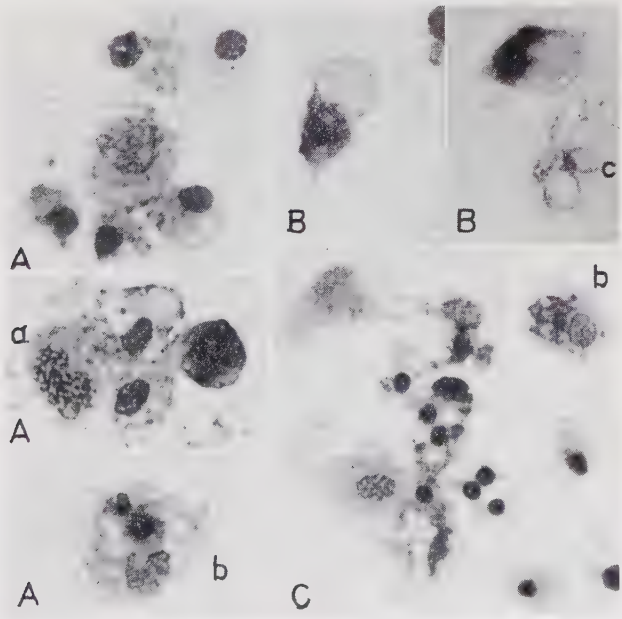


Abb. 2. Monocyten: A: Phallusia mamillata, B: Ascidia mentula, C: Ciona intestinalis. Die Monocyten weisen teils Phagocytose auf (b), teils befinden sie sich in Mitose (a). In C. befindet sich zwischen den Monocyten eine Gruppe «Endothelien». c: ein Flavocyt. Pappenheim. 1200fach.

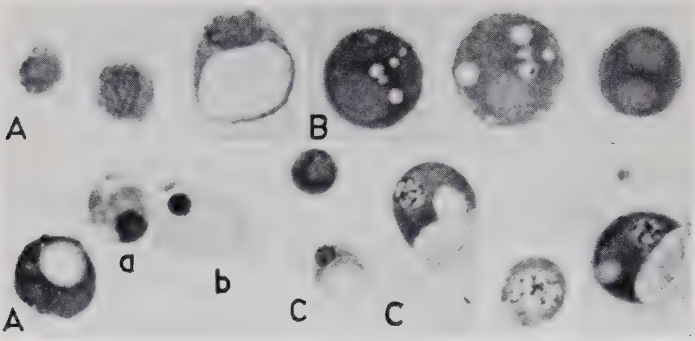


Abb. 3. Plasmazellen: A: Phallusia mamillata, B: Ascidia mentula, C: Ciona intestinalis. Ein Teil enthält deutliche «Vakuolen», die teils durchsichtig, teils gefärbt sind (in den Originalpräparaten rot, grau, blau, gelblich). Mitosen in C. Starke Größenunterschiede, wie auch beim Menschen. Ganz rechts in B polyploides zweikerniges Element, auch sonst bei Plasmazellen häufig. Phallusia mam. hat wenig und kleine Plasmazellen, die anderen bedeutend mehr. a: Monocyt, b: «Endothel». Pappenheim und Giemsa. 1200fach.

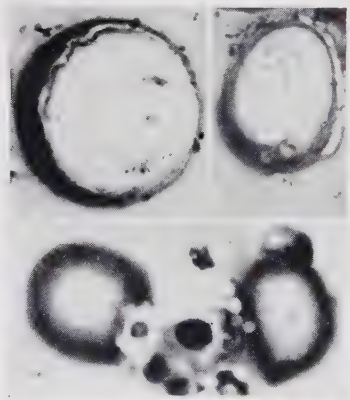


Abb. 4. «Russel»-Körperchen von Ascidia mentula intracellulär und frei. Oben sind sie noch in siegelringförmigen Plasmazellen enthalten und geschichtet. Unten 2 freie Körperchen. Pappenheim und Giemsa. 1200fach.

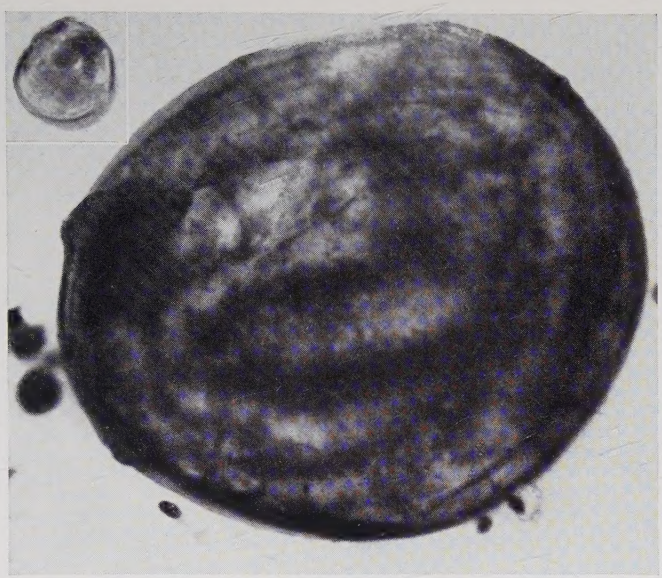


Abb. 5. Freie «Russel»-Körperchen bei Ciona intestinalis. Das Körperchen oben links hat noch die normale Zellgröße. Das Riesenkörperchen darunter hat sich, frei flottierend, durch Apposition vergrößert. Giemsa. 1200fach.

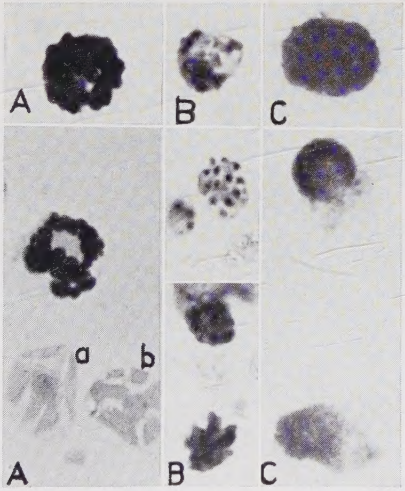


Abb. 6. Gewebsbasophile: A: Phallusia mamillata, B: Ascidia mentula, C: Ciona intestinalis. Oben: Peroxydasereaktion; die Persistenz der Granula spricht dafür, daß es sich nicht um Basophile mit löslicher Granulation (Blutbasophile), sondern um Basophile mit unlöslicher Granulation (Gewebsbasophile) handelt. Unten: Toluidinblaufärbung: Ein Gewebsbasophiler von Phallusia mamillata, drei von Ascidia mentula, zwei von Ciona intestinalis. Die starke Metachromasie dieser Zellen äußert sich schwarz-weiß in sehr dunklem bis zu schwarzem Ton gegenüber allen anderen Elementen (a: Flavocyt, b: Vanadocyt), die blaß bleiben. Große Artunterschiede der Basophilen bei den drei Ascidienarten sind sichtbar: grobe und dichte Granulation bei A, schwächere Granulation und kleinere Zellen bei B, feine und dichte Granulation (wie beim Gewebsbasophilen von Menschen) in C. 1200fach.

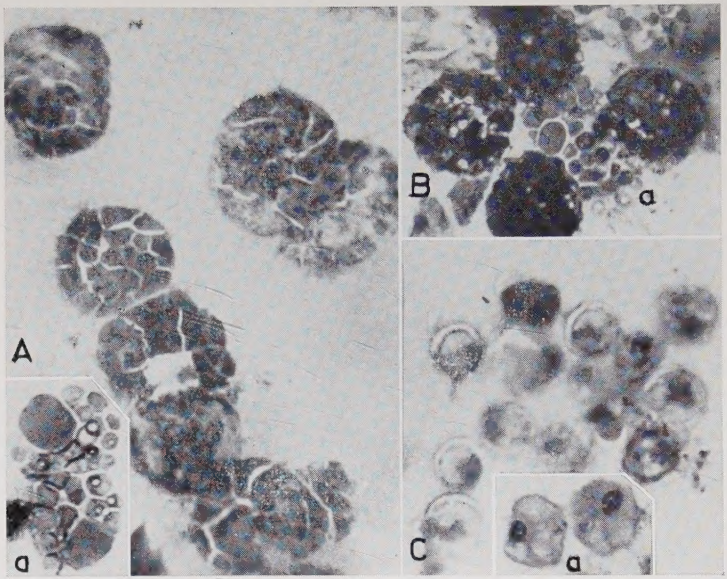


Abb. 7. Neutrophile («Pseudoeosinophile», «Vanadocyten»), verhüllt und nackt. A: Phallusia mamillata, B: Ascidia mentula, C: Ciona intestinalis. a: enthüllte nackte Vanadocyten, alle anderen sind von der vanadiumhaltigen Hülle umgeben, die infolge der Osmiumreaktion auch im Originalpräparat grau bis schwarz ist. In C etwas abgeblaßt. Die nackten Vanadocyten zeigen kugelige, acidophile, im Originalpräparat rot gefärbte Granula, von denen bei Phallusia eines besonders groß und immer livide verfärbt ist. A und B: Pappenheim und Osmium. C: Papenheim. 1200fach.

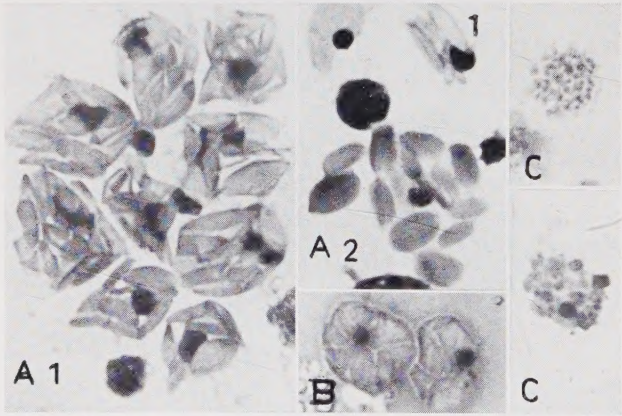
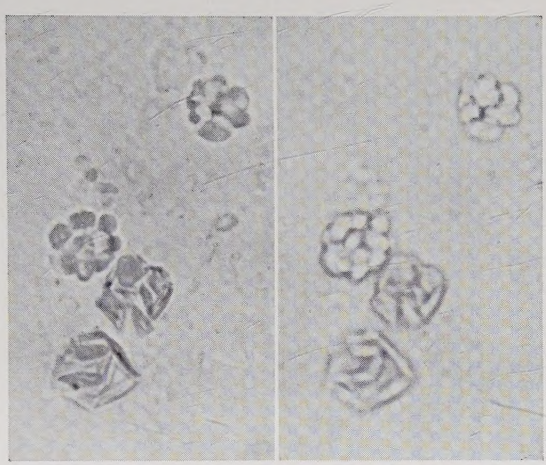


Abb. 8. Eosinophile (Flavocyten). A: Phallusia mamillata, B: Ascidia mentula, C: Ciona intestinalis. Bei Phallusia enthalten die Flavocyten größtenteils hellgelbe und spindelförmige Granula (A_1), seltener große, weizenkornähnliche, bräunliche Granula (A_2). Die Granula bei Ascidia sind unscharf begrenzt und auch spindelförmig (B), bei Ciona sind die Flavocyten klein und enthalten viel runde Granula (C). Die Flavocyten sind bis auf die Kerne chromophob gegenüber allen Färbungen und zeigen nur ihre gelbliche Eigenfärbung. Die Sekundärunterschiede dieser Zellen bei den drei Tierarten sind sehr eindrucksvoll. A und B: Pappenheim und Giemsa. C: Toluidinblau. 1200fach.



A B

Abb. 9. Phallusia mamillata. Ungefärbter Blutausstrich. — A und B: dasselbe Objekt in verschiedenen Ebenen photographiert. Oben: zwei Vanadocyten, unten: zwei Flavocyten. Bei der scharfen Einstellung in A sind die Granula beider Zellarten dunkel, bei der etwas unscharfen Einstellung in B sind sie hell. Die Granula beider Zellarten sind somit lichtbrechend. 1200fach.

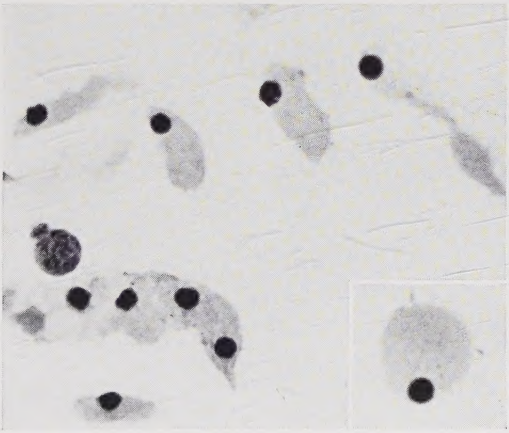


Abb. 10. Endothelien oder Thrombocyten? Phallusia mamillata. Runde oder ausgezogene, teils miteinander verbundene Elemente, die bei gewissen Ascidien eine stark positive P.A.S.-Reaktion geben. Es ist noch abzuklären, ob es nicht echte Thrombocyten sein könnten. In Abb. 2 C befindet sich in der Mitte ein Schwarm solcher Elemente. 1200fach.